

First Hit

L4: Entry 1 of 2

File: JPAB

Jan 9, 1996

PUB-NO: JP408003033A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 08003033 A

TITLE: SUPPRESSANT FOR CHOLESTEROL ABSORPTION

PUBN-DATE: January 9, 1996

INVENTOR-INFORMATION:

NAME

COUNTRY

SAWADA, HARUJI

CHATANI, TAKAKO

OISHI, KENJI

TEZUKA, KENICHI

WATANABE, TSUNEICHI

YOKOKURA, TERUO

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME

COUNTRY

YAKULT HONSHA CO LTD

APPL-NO: JP06135422

APPL-DATE: June 17, 1994

INT-CL (IPC): A61 K 31/06; A61 K 31/085; A61 K 35/78; C12 N 9/99; C07 C 39/21;
C07 C 43/295

ABSTRACT:

PURPOSE: To obtain a suppressant for the cholesterol absorption, containing magnolol, isomagnolol or honokiol as an active ingredient and having inhibiting activities against cholesterol acyltransferases.

CONSTITUTION: This suppressant for cholesterol contains 1-95wt.% magnolol of formula I, isomagnolol of formula II or honokiol of formula III as an active ingredient. The compound of formula I, II or III is obtained by extraction thereof from a tree bark of a plant belonging to the family Magnoliaceae with an alcohol. The resultant compound has low toxicity and is useful for preventing and treating human diseases, hyperlipemia or arteriosclerosis caused by accumulation of the cholesterol. Furthermore, the compound is preferably orally administered alone or together with a pharmacologically permissible salt, etc., and the daily dose thereof is 10-500mg/kg.

COPYRIGHT: (C)1996, JPO

First Hit

End of Result Set

L4: Entry 2 of 2

File: DWPI

Jan 9, 1996

DERWENT-ACC-NO: 1996-094111

DERWENT-WEEK: 199610

COPYRIGHT 2006 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Cholesterol absorption inhibitors contg. (iso)magnolol or hoonokiol - is used for treating diseases caused by cholesterol build-up e.g. arteriosclerosis

PATENT-ASSIGNEE: YAKULT HONSHA KK (HONS)

PRIORITY-DATA: 1994JP-0135422 (June 17, 1994)

Search Selected

Search ALL

Clear

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
<input type="checkbox"/> JP 08003033 A	January 9, 1996		009	A61K031/06

APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL-DATE	APPL-NO	DESCRIPTOR
JP 08003033A	June 17, 1994	1994JP-0135422	

INT-CL (IPC): A61 K 31/06; A61 K 31/085; A61 K 35/78; C07 C 39/21; C07 C 43/295; C12 N 9/99

ABSTRACTED-PUB-NO: JP 08003033A

BASIC-ABSTRACT:

Cholesterol absorption inhibitor contains as active component magnolol, isomagnolol or hoonokiol.

Also claimed is acyl-CoA/cholesterol acyltransferase (ACAT) inhibitor or anti-arteriosclerotic agent contg. as active component magnolol, isomagnolol or hoonokiol.

Magnolol, isomagnolol and hoonokiol may be isolated from magnolia plants (e.g. *Magnolia officinalis*, *M. obovata*) by extn. with lower alcohol (e.g. MeOH, EtOH, ProH). Extract is condensed and applied to column chromatography (e.g. silica gel/CHCl₃-MeOH; HPLC. Oral solid prepn. may be prepd. with excipients (e.g. starch, lactose, CMC, CaCO₃), binders (e.g. gum arabic, gum tragacanth, gelatin, methyl cellulose, CMC), disintegrator (e.g. alginic acid, corn starch), lubricant (e.g. Mg stearate, SiO₂ hydrate, silicic anhydride), sweetener (e.g. saccharose) and flavour (e.g. methanol). Liq. prepn. may be made with sorbitol, gelatin, methylcellulose, vegetable oil and emulsifier.

USE/ADVANTAGE - Cholesterol absorption inhibitors are useful in treatment or prevention of diseases caused by accumulation of cholesterol in humans, e.g. hyperlipaemia, arteriosclerosis. They may be administered orally as tablets,

capsules, granules, powder, troches or syrup. Dosage is 10-500 mg/kg/day.
Inhibition rates (IC50) of magnolol and honokiol for Acyl-CoA/ACAT are 27 microM and 35 microM respectively. Acute toxicity is more than 500 mg/kg in rats (p.o.).

In an example, magnolol 25 g, lactose 200 g, talc stearate 20 g and starch 30 g were formed into tablets (1000 pieces).

ABSTRACTED-PUB-NO: JP 08003033A
EQUIVALENT-ABSTRACTS:

CHOSEN-DRAWING: Dwg.0/6

DERWENT-CLASS: B04 B05
CPI-CODES: B04-A08; B14-D06; B14-F06; B14-F07;

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-3033

(43) 公開日 平成8年(1996)1月9日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 31/06	A E D	9455-4C		
31/085	A D N	9455-4C		
35/78	A B X C	8217-4C		
C 1 2 N 9/99				
// C 0 7 C 39/21				

審査請求 未請求 請求項の数6 O L (全 9 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平6-135422	(71) 出願人	000006884 株式会社ヤクルト本社 東京都港区東新橋1丁目1番19号
(22) 出願日	平成6年(1994)6月17日	(72) 発明者	澤田 治司 東京都港区東新橋1-1-19 株式会社ヤクルト本社内
		(72) 発明者	茶谷 貴子 東京都港区東新橋1-1-19 株式会社ヤクルト本社内
		(72) 発明者	大石 憲司 東京都港区東新橋1-1-19 株式会社ヤクルト本社内
		(74) 代理人	弁理士 有賀 三幸 (外3名) 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 コレステロール吸収抑制剤

(57) 【要約】

【構成】 マグノロール、イソマグノロール又はホオノキオールを有効成分として含有するコレステロール吸収剤。

【効果】 毒性が低く、なおかつコレステロールアシルトランスフェラーゼを有効に阻害するのでコレステロール蓄積に起因する疾病の予防及び治療に有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 マグノロール、イソマグノロール又はホオノキオールを有効成分とするコレステロール吸収抑制剤。

【請求項2】 マグノロール、イソマグノロール又はホオノキオールが、もくれん科モクレン属植物の樹皮よりアルコールで抽出されたものである請求項1記載のコレステロール吸収抑制剤。

【請求項3】 マグノロール、イソマグノロール又はホオノキオールを有効成分とするアシルコエンザイムA：コレステロールアシルトランスフェラーゼ活性阻害剤。

【請求項4】 マグノロール、イソマグノロール又はホオノキオールが、もくれん科モクレン属植物の樹皮よりアルコールで抽出されたものである請求項3記載のアシルコエンザイムA：コレステロールアシルトランスフェラーゼ活性阻害剤。

【請求項5】 マグノロール、イソマグノロール又はホオノキオールを有効成分とする動脈硬化症予防・治療剤。

【請求項6】 マグノロール、イソマグノロール又はホオノキオールが、もくれん科モクレン属植物の樹皮よりアルコールで抽出されたものである請求項5記載の動脈硬化症予防・治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、コレステロールアシルトランスフェラーゼ（以下、「ACAT」という）を阻害することによりコレステロールの吸収、蓄積を防止し、動脈硬化症を予防・治療するための医薬に関する。

【0002】

【従来の技術】ACATは、コレステロールの脂肪酸エステル化酵素であり、本酵素の阻害剤は動脈硬化の治療薬として期待されている（Drago R. et al., Tips 194, (12), 1991）。

【0003】近年わが国においても、生活水準の変化に伴い欧米型の食生活の増加、人口の高齢化とともに高脂血症及びそれに起因する動脈硬化性疾患が増加し、社会問題となっている。動脈硬化症は、血管の内膜が肥厚し脂質蓄積が特徴的な病変である。近年粥状動脈硬化症の病巣に、マクロファージ由来の細胞がコレステロールエステルを脂肪滴として貯蔵している泡沫細胞が観察され、病変の進展に深く関わっていると推定されている。また、動脈硬化病変部位の血管壁のACAT活性が高くなっており、血管壁へコレステロールエステルが蓄積していることが報告されている。

【0004】従って、ACAT活性調節作用を有する物質を用いれば、コレステロールのエステル化を阻害することができ、細胞に存在する遊離コレステロールは高比重リポ蛋白（HDL）によって、沈着部位から取り去られ、肝臓に運ばれて代謝されるので、病変部位でのコレ

ステロールエステルの蓄積が抑制され、直接的な抗動脈硬化作用を得ることができる。

【0005】また、食事に含まれるコレステロールは小腸粘膜細胞においてACATによりエステル化された後、カイロミクロンの成分として血流に放出される。よって、ACATの阻害剤を用いれば、食事中的コレステロールの小腸上皮細胞での吸収を阻害することにより、血中コレステロールを低下させることができるため、その結果として、動脈硬化を抑制することができる。

【0006】また、カイロミクロンによって肝臓まで運ばれたコレステロールエステルはコレステロールエステラーゼで遊離コレステロールに分解された後、肝臓で合成された遊離コレステロールとともにACATによって再度コレステロールエステルに変換され、超低比重リポ蛋白（VLDL）に組み込まれて血中へと放出される。よって、かかるACAT阻害剤によってコレステロールのエステル化が阻止されれば、肝臓の遊離コレステロール量が増加し、コレステロール合成系の抑制がかかると共に、コレステロールの胆汁酸への変換の過程における律速酵素である7 α -水酸化酵素活性が亢進し、コレステロールの胆汁酸への異化排泄作用が高まる。

【0007】このように、ACAT阻害物質を用いれば、食事中的コレステロールの小腸からの吸収を阻害することにより、また、肝臓でのコレステロールの再エステル化を抑制し、更にコレステロールの異化排泄促進作用により血中コレステロールを低下させ、動脈硬化症を予防又は治療することができる。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】従来、天然の微生物が産生するACAT阻害物質は、いくつか報告されているが、未だ医薬として有用なACAT阻害物質は得られていないのが実情である。従って、本発明の目的は優れたACAT阻害物質を含有するコレステロール吸収抑制剤及び動脈硬化症予防・治療剤を提供することにある。

【0009】

【課題を解決するための手段】斯かる実情に鑑み、本発明者は鋭意研究を行った結果、もくれん科モクレン属植物の抽出物中に優れたACAT阻害作用を有する物質があることを見出し、更にそのACAT阻害物質を単離、精製した結果、この物質はマグノロール、イソマグノロール、ホオノキオールであることを見出し、本発明を完成した。

【0010】すなわち本発明は、マグノロール、イソマグノロール又はホオノキオールを有効成分として含有するコレステロール吸収抑制剤及び動脈硬化症予防・治療剤を提供するものである。

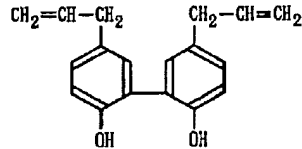
【0011】本発明で用いるマグノロール、イソマグノロール又はホオノキオールは、唐厚朴や厚朴等のもくれん科モクレン属の植物の樹皮に含まれている成分であり、和厚朴は日本薬局方にコウボクとして記載されてお

3

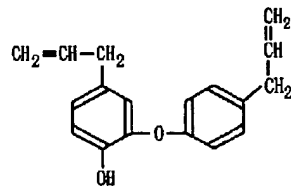
り、健胃薬、鎮痛鎮けい薬（胃腸薬）として用いられる。

【0012】しかしながら、唐厚朴や和厚朴中の成分にACAT阻害物質が含まれているという報告はない。

【0013】本発明の有効成分であるマグノロール、ホ*



マグノロール



イソマグノロール

【0015】これらの有効成分は、例えばもくれん科モクレン属植物の樹皮をアルコールで抽出することにより得られる。

【0016】ここで用いるもくれん科モクレン属の植物としては、上記の物質を含有するものであればいずれも用いることができるが、例えば唐厚朴（マグノリア オフィシナリス：シナホオノキ）、湖北木蘭（マグノリア・スプレングリ）及び和厚朴（マグノリア オボヴァータ）が挙げられる。就中、唐厚朴が最も好ましい。

【0017】唐厚朴は中国南部原産で、広西、湖南、湖北、四川、貴州、雲南等に分布し、湿潤で冷涼な気候に適する落葉高木である。この樹皮及び根皮は古くから漢方の方剤として薬用されており、胸腹部の圧迫感及びとう痛、かく乱、利尿、止瀉、鎮咳、整腸、消化薬として、胸腹部のぼう満、腹痛などを対象として利用されている。

【0018】モクレン属の植物から前記の有効成分の抽出に用いるアルコールは、メタノール、エタノール、プロパノール等の低級アルコールが挙げられる。また、これらのアルコールは水との混合物、すなわち含水アルコールとして用いてもよい。

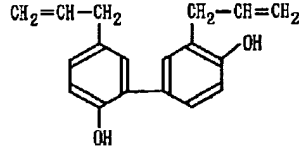
【0019】得られた抽出液は、減圧濃縮し、そのまま医薬として用いてもよく、また、クロマトグラフィー等で精製してもよい。クロマトグラフィーを用いて精製するには、例えば該抽出液の濃縮物をシリカゲルをクロロホルムにて充填したガラスカラム（内径5cm、長さ30cm）の上部に積層し、各600mlのクロロホルム、95%クロロホルム：メタノール、90%クロロホルム：メタノール、80%クロロホルム：メタノールで順次溶出※50

4

*オノキオール及びイソマグノロールは次の構造式で表わされるものである。

【0014】

【化1】



ホオノキオール

※することによって活性成分の分画を行うことができる。

【0020】溶出した液は150mlあるいは200mlずつ分取し、活性画分を減圧乾固して粗活性物質を取得することができる。これを高速液体クロマトグラフィー（ウォーターズ社製 システム600E）を用い、逆相C18カラムを使用して、アセトニトリル：水（50：50）の溶媒系により分離精製することができる。また、必要ときには分取薄層クロマトグラフィーによって活性画分の精製を行うことができる。

【0021】次に、本発明で得られたマグノロール、ホオノキオールの生物学的性状及び毒性について述べる。

【0022】（1）ラット由来アシル-CoA（コレステロールアシルトランスフェラーゼ）に対する阻害作用
アシルCoA（コレステロールアシルトランスフェラーゼ）活性に対する影響は、ラット肝臓のミクロゾーム蛋白画分より調製した粗酵素を用い、（¹⁴C）-オレオイルCoAを基質に、内因性のコレステロールから

（¹⁴C）-コレステリルオリエートを生成させる反応をインビトロで行わせた。詳細には次の如く行った。培養上清を試料とするときの反応液組成は、20μlのミクロゾーム蛋白（1.83mg/ml）、20μlの（¹⁴C）-オレオイルCoA（5μCi/ml、BSA：96nmol/ml）、90μlの100mMリン酸緩衝液（5mMのジチオスレイトールを含む、pH7.4）、20μlの培養上清液、合計150μlからなる。一方、分画物を試料とする時の反応液組成は、20μlのミクロゾーム蛋白（1.83mg/ml）、20μlの（¹⁴C）-オレオイルCoA（5μCi/ml、BSA：96nmol/ml）、106μlの100mMリン酸緩衝液（5mMのジチオスレイトー

5

ルを含む、pH7.4) 4 μ l のメタノールあるいはジメチルスルホキシドに溶解した試料、合計150 μ l からなる。

【0023】なお、反応は37℃で行い、所定の反応時間(通常18分間)終了後、5.65mlのクロロホルム:メタノール(2:1)を添加して反応を停止したのち、0.04Nの塩酸水溶液0.98ml及びキャリアーとしてコレステリルオリエートを加え、20分間振盪機で抽出したのち、一晚冷暗所に放置した。翌日、分離したクロロホルム下層全量を抜き取り、これを窒素気流下に乾燥させ、残った上層にホルチの分配溶液下層5.65mlを加えて再度抽出した。これを一晚暗所に放置した後、下層全量を抜き取り、先に乾固したクロロホルム下層画分と合わせて乾固した。

【0024】次に、これを200 μ l のクロロホルムに溶解し、シリカゲル薄層クロマトグラフィー G60プレート(アルミニウムシート)に全量塗布した。これをジエチルエーテル:石油エーテル(10:190)で10cm展開した後、オートラジオグラフィーを行い、生成した(14 C)コレステリルオリエートを確認した。次にこの部分を切りとって、トルエン中で各試料共5分間の液体シンチレーションカウンティングあるいはベータスコープ(ベータ・ジェン社製)によって30分間放射活性を測定した。本酵素を50%阻害する濃度を測定した結果、マグノロールのIC₅₀値は27 μ M、ホオノキオールのIC₅₀値は35 μ Mであった。

【0025】(2)マクロファージに対するコレステロールエステル蓄積抑制作用

マグノロール、ホオノキオールのマクロファージに対するコレステロールエステル蓄積抑制作用は、マウスのマクロファージ樹立細胞であるJ771.4株を用いて行った。

【0026】内皮細胞や平滑筋細胞におけるLDLの代謝は細胞内の過剰の遊離コレステロールによって、LDLレセプターのダウンレギュレーションがかかるが、マクロファージにおいては変性LDLの取り込みは、スカベンジャーレセプター経路による。この経路はレギュレーションがかからないためコレステロールエステルが無制限に蓄積してゆく。

【0027】そこで、 14 Cでラベルしたコレステロールとホスファチジルコリンからなるリボソームをマクロファージ細胞に取り込ませ、粗面小胞体に存在するアシル-CoA:コレステロールアシルトランスフェラーゼに作用させることにより、該マグノロール及びホオノキオールが細胞内コレステロールエステルの蓄積を抑制するかどうかを調べた。

【0028】マクロファージ細胞を10%牛胎児血清及びペニシリン50 U/ml、ストレプトマイシン50 μ g/mlを加えたRPMI 1640培地(日水製薬製)にて、2日間、5%CO₂の条件にてインキュベートし

6

た。次いで、トリアシン処理を行い、ウェルの底面に付着している細胞を剥がして細胞懸濁液とした後、細胞を上記新鮮培地で洗浄し、24穴のマルチプルウェルプレート(コーニング社製25820-24)に1ウェル当たり 2×10^6 個/mlの細胞溶液750 μ lを播種した。37℃、5%CO₂の条件下で37時間培養した後、前記新鮮培地と交換し、更に80 μ gのコレステロール(0.4 μ Ciの(3 H)-コレステロールを含む)と160 μ gのホスファチジルコリンを含んだ0.3Mのグルコース溶液40 μ l、及び被検試料を溶解したメタノール溶液10 μ lを添加して、12時間培養した。これらの操作は無菌的に行った。

【0029】培養終了後、血清を含まないRPMI 1640培地を使用して底面に付着している細胞を5回駒込ピペットで洗浄した後、1mlのイソプロパノールを添加して細胞内のコレステロール及び生成したコレステロールエステルを抽出した。この抽出液をシリカゲル薄層クロマトグラフィー(メルク社製 Art. 5553)に全量塗布し、ヘキサン:エーテル:ギ酸(80:20:2)にて展開した後、オートラジオグラフィーを行った。次に 3 Hでラベルされたコレステロールエステル及びコレステロール部分を切り取り、液体シンチレーションカウンターにて放射活性を測定し、対照と比較してコレステロールエステル蓄積抑制率を得た。その結果マグノロールのIC₅₀値は21 μ M、ホオノキオールのIC₅₀値は23 μ Mであった。

【0030】(3)急性毒性作用

マグノロール及びホオノキオールをそれぞれ500mg/kgをラットに2週間連日経口投与したが何ら毒性等は認められなかった。

【0031】上記の如く、マグノロール、イソマグノロール及びホオノキオールは優れたACAT活性阻害作用を有し、かつ安全性が高いのでヒトのコレステロール吸収抑制剤として有用であり、更にコレステロール蓄積に起因する疾病、すなわち高脂血症や動脈硬化症の予防及び治療に有用である。

【0032】上記マグノロール、イソマグノロール又はホオノキオールは単独あるいは薬理的に許容される担体などと共に、経口的に投与することが好ましい。経口投与用の製剤としては例えば錠剤、カプセル剤、顆粒剤、粉末剤、トローチ剤、シロップ剤などが挙げられる。錠剤、カプセル剤、顆粒剤、粉末剤、トローチ剤などの固型の組成物においてはデンプン、ラクトース、カルボキシメチルセルロース、沈降炭酸カルシウムなどの賦形剤、アラビアゴム、トラガントゴム、ゼラチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースなどの結合剤、アルギン酸、コーンスターチなどの崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム、含水二酸化ケイ素、軽質無水ケイ酸などの滑沢剤、サッカロースなどの甘味剤、メントールなどのフレーバー剤などを含有することができる。シ

ロップ剤など液状の組成物においてはソルビトール、ゼラチン、メチルセルロース、植物油、乳化剤のほか甘味剤、フレーバー剤、着色剤などを含有することができ、これら製剤中には1~95重量%の上記有効成分を含有するのが望ましい。また投与量は上記有効成分として10~500mg/kg・日とすることが好ましい。

【0033】

【発明の効果】上記の如く、本発明のコレステロール吸収抑制剤又は動脈硬化症予防・治療剤の有効成分であるマグノロール、イソマグノロール及びホオノキオールは、何れも毒性が低く、アシルC₆Aコレステロールアシルトランスフェラーゼに対して著しい阻害活性を示すことから、ヒトのコレステロール蓄積に起因する疾病、高脂血症、動脈硬化症の予防及び治療に有用である。

【0034】

【実施例】次に実施例を挙げて本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0035】実施例1

500gの唐厚朴を10Lのメタノールを用いて1週間の間室温で冷浸抽出した。その後メタノール抽出液を濾過した後、濃縮乾固して72gの粗抽出物を得た。次に、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(5cmφ×60cm)に全粗抽出物を積層し、600mlのクロロホルムで溶出した後、95%クロロホルム：メタノール、90%クロロホルム：メタノール及び80%クロロホルム：メタノールそれぞれ600mlにて順次溶出することにより活性画分を回収した。得られた粗活性物質は39gであった。次に、この粗活性物質全量をクロロホルム：メタノール(95：5)を溶出液としたシリカゲルカラムクロマトグラフィー(5cmφ×100cm)にて再度クロマトグラフィー分画を行った。

【0036】溶出液は150mlずつ分取し、活性画分を減圧乾固して29gの粗活性画分を取得した。次に、上記粗活性物質1.8gを高速液体クロマトグラフィー(ウォーターズ社製 システム600E)を用い、逆相C₁₈カラム(ウォーターズ社製マイクロボンドバックC₁₈)を使用して、アセトニトリル：水(50：50)の溶媒で分離溶出し、2種類の活性成分(成分1：354mg及び成分2：276mg)を単離した。

【0037】これらのACAT阻害活性を示す2種類の成分1及び成分2は、それぞれについて更にクロロホルム：メタノール(80：20)を展開溶媒とした分取薄層クロマトグラフィー(メルク社製：シリカゲル 60 F₂₅₄ Art. 5717)によって精製を行った。最後に活性成分1は酢酸エチル中で、活性成分2はベンゼン中で再結晶させることにより、223mgの成分1及び189mgの成分2の針状結晶を得た。それぞれの純度は高速液体クロマトグラフィーによる分析で95%以上であった。

【0038】次に得られた活性物質の理化学的性状につ

いて述べる。

活性成分1

(1) 分子式：C₁₈H₁₈O₂

(2) 分子量：266 (マスペクトルによりm/z 266 (M⁺) が観察された。)

(3) 紫外線吸収スペクトル(エタノール中)：図1の通り。

(4) 赤外線吸収スペクトル(KBr中)：図2の通り。

(5) 溶媒に対する溶解性：メタノール、エタノール、アセトニトリル、酢酸エチル、クロロホルム、ベンゼンに可溶、水に不溶。

(6) 塩基性、酸性、中性の区別：中性。

(7) 物質の色、形状：白色、粉末。

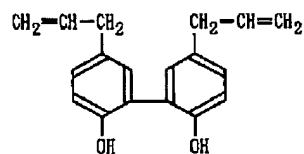
(8) プロトン核磁気共鳴スペクトル(重水素化ジメチルスルホキシド中)：

¹H-NMR(DMSO-d₆, 400MHz, 37°C) δ: 3.27(4H, d, J=8Hz), 5.01(2H, d, J=16Hz), 5.05(2H, d, J=28Hz), 5.88-5.98(2H, m), 6.81(2H, d, J=8Hz), 6.93(2H, s), 6.94(2H, d, J=8Hz), 8.94(2H, broad s). (図3参照)

(9) 化学構造：

【0039】

【化2】



マグノロール

【0040】以上から本活性成分1はマグノロールと特定された。

【0041】活性成分2

(1) 分子式：C₁₈H₁₈O₂

(2) 分子量：266 (マスペクトルによりm/z 266 (M⁺) が観察された。)

(3) 紫外線吸収スペクトル(エタノール中)：図4の通り。

(4) 赤外線吸収スペクトル(KBr中)：図5の通り。

(5) 溶媒に対する溶解性：メタノール、エタノール、アセトニトリル、酢酸エチル、クロロホルム、ベンゼンに可溶、水に不溶。

(6) 塩基性、酸性、中性の区別：中性。

(7) 物質の色、形状：白色、粉末。

(8) プロトン核磁気共鳴スペクトル(重水素化ジメチルスルホキシド中)：

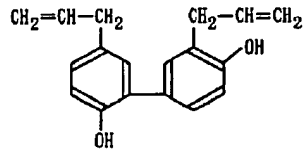
¹H-NMR(DMSO-d₆, 400MHz, 37°C) δ: 3.27(2H, d, J=4Hz), 3.32(2H, d, J=8Hz), 5.00(2H, d, J=12Hz), 5.05(1H, d, J=20Hz), 5.06(1H, d, J=20Hz), 5.88-5.98(1H, m), 5.94-6.03(1H, m), 6.81(2H, d, J=8Hz), 6.88(1H, d, J=8Hz), 6.95(1H, d, J=4H

z), 7.20(1H, d, J=12Hz), 7.21(1H, s), 9.06(1H, broad s), 9.16(1H, broad s). (図6参照)

(9) 化学構造:

【0042】

【化3】



ホオノキオール

製剤例1 (錠剤)

マグノロール
ラクトース
ステアリン酸タルク
デンプン

【0046】

製剤例2 (錠剤)

ホオノキオール
ラクトース
ステアリン酸タルク
デンプン

【図面の簡単な説明】

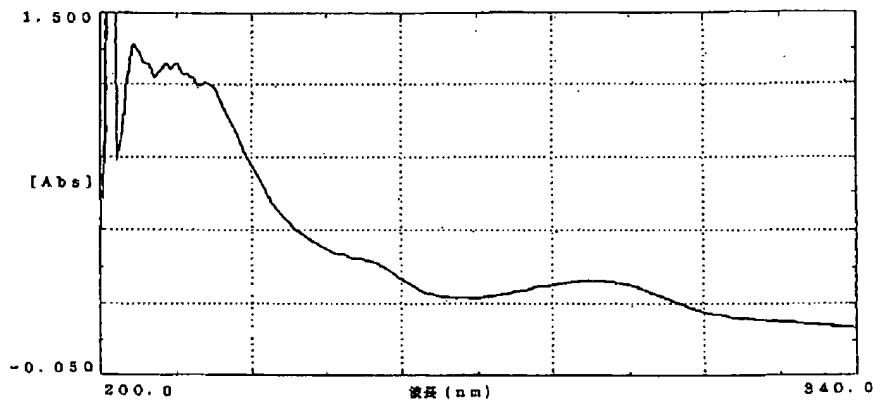
【図1】 活性成分1の紫外線吸収スペクトルを示す図である。

【図2】 活性成分1の赤外線吸収スペクトルを示す図である。

【図3】 活性成分1の核磁気共鳴スペクトルを示す図である。

★

【図1】



*【0043】以上から、本活性成分2はホオノキオールと同定された。

【0044】実施例2

マグノロールあるいはホオノキオールを含む錠剤の製造: 下記成分を混合機で混和し、打錠して0.5gの錠剤1000個をそれぞれ得た。

【0045】

【表1】

10

*

※ ※【表2】

25g
200g
20g
30g

★【図4】 活性成分2の紫外線吸収スペクトルを示す図である。

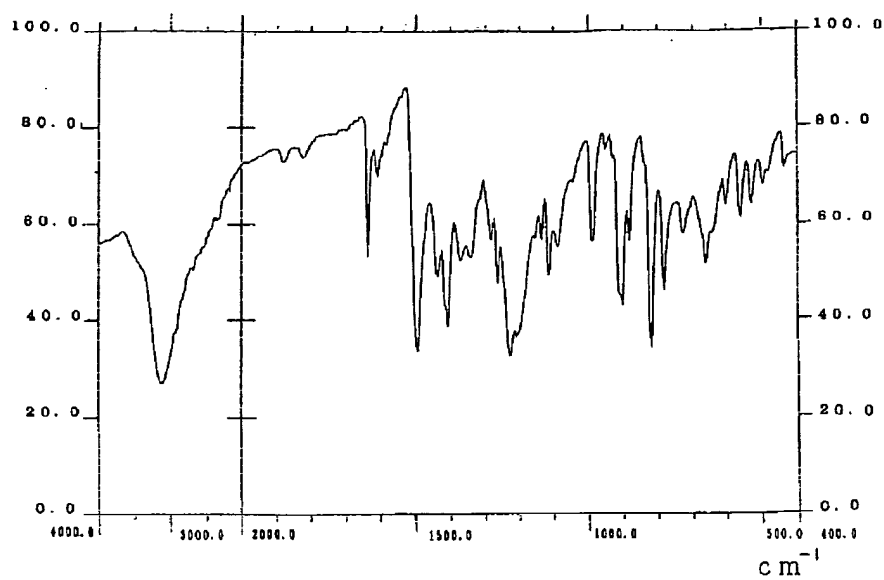
【図5】 活性成分2の赤外線吸収スペクトルを示す図である。

【図6】 活性成分2の核磁気共鳴スペクトルを示す図である。

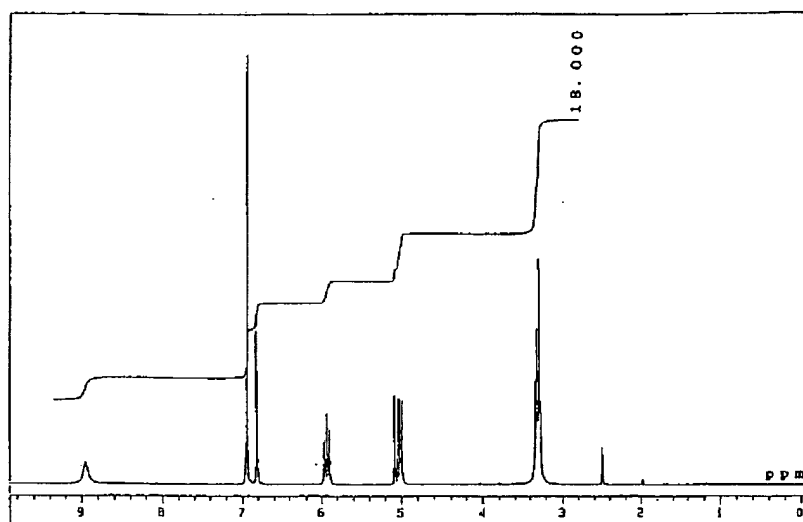
(7)

特開平8-3033

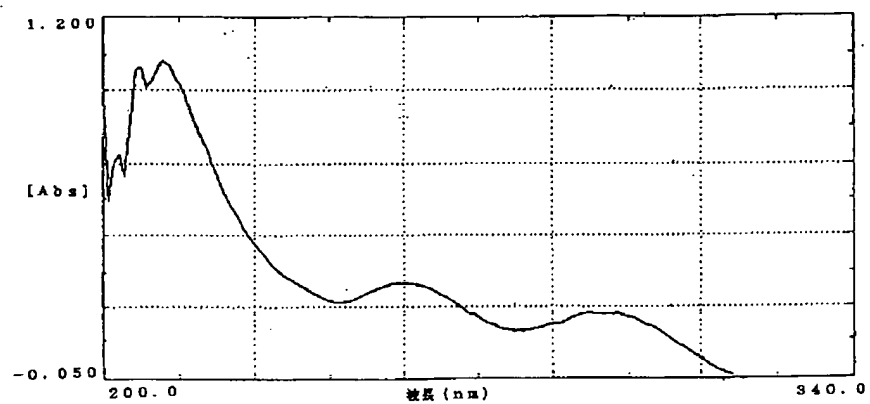
【図2】



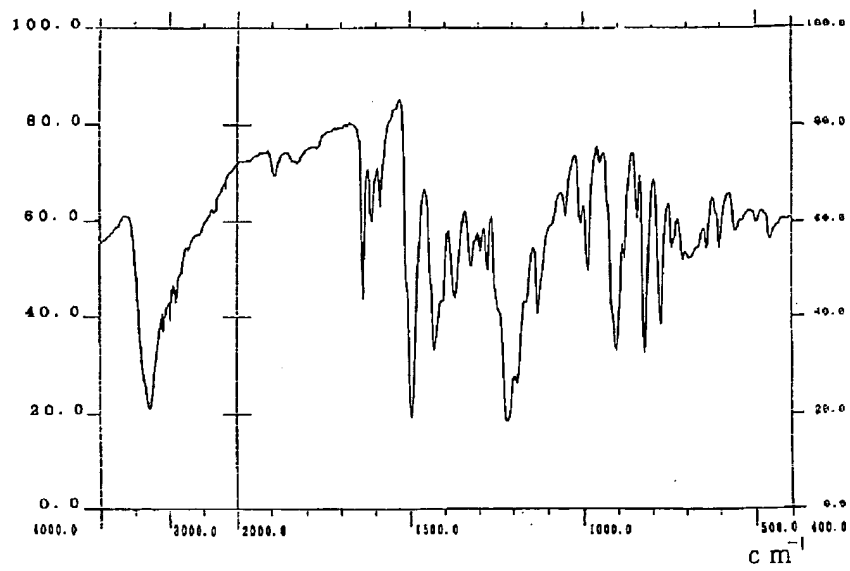
【図3】



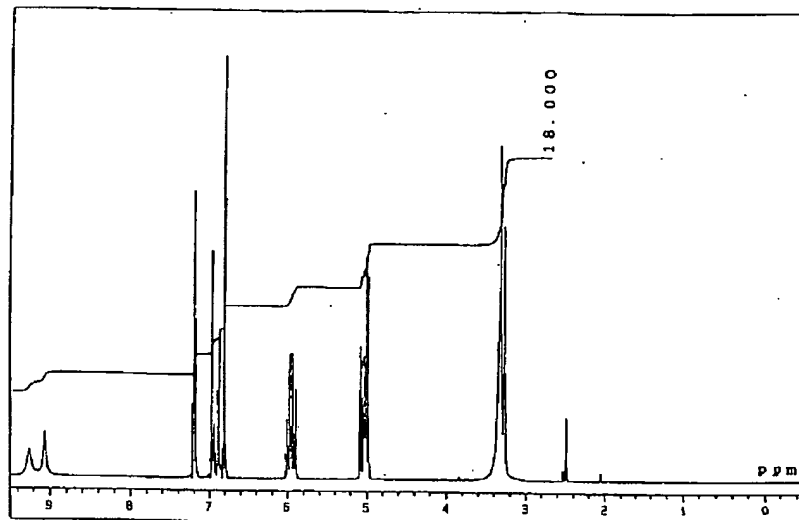
【図4】



【図5】



【図6】



フロントページの続き

(51)Int. Cl.⁶
C 07 C 43/295

識別記号 庁内整理番号
C 7419-4H

F I

技術表示箇所

(72)発明者 手塚 賢一
東京都港区東新橋1-1-19 株式会社ヤ
クルト本社内

(72)発明者 渡辺 常一
東京都港区東新橋1-1-19 株式会社ヤ
クルト本社内
(72)発明者 横倉 輝男
東京都港区東新橋1-1-19 株式会社ヤ
クルト本社内

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 08-003033

(43)Date of publication of application : 09.01.1996

(51)Int.Cl.

A61K 31/06
A61K 31/085
A61K 35/78
C12N 9/99
// C07C 39/21
C07C 43/295

(21)Application number : 06-135422

(71)Applicant : YAKULT HONSHA CO LTD

(22)Date of filing : 17.06.1994

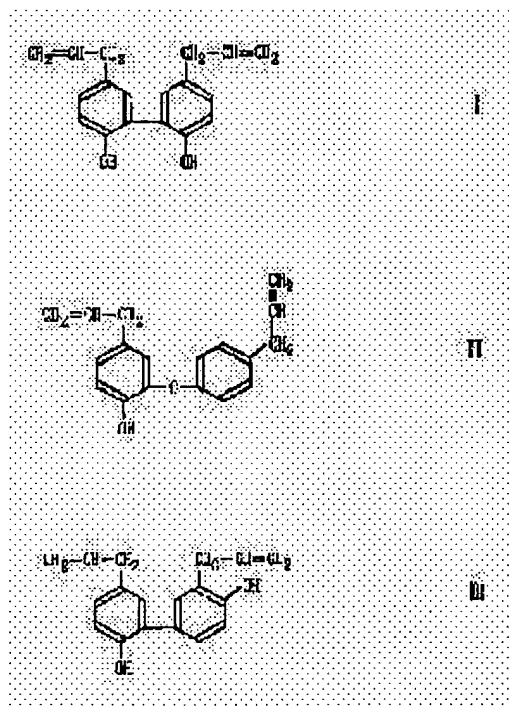
(72)Inventor : SAWADA HARUJI
CHATANI TAKAKO
OISHI KENJI
TEZUKA KENICHI
WATANABE TSUNEICHI
YOKOKURA TERUO

(54) SUPPRESSANT FOR CHOLESTEROL ABSORPTION

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain a suppressant for the cholesterol absorption, containing magnolol, isomagnolol or honokiol as an active ingredient and having inhibiting activities against cholesterol acyltransferases.

CONSTITUTION: This suppressant for cholesterol contains 1-95wt.% magnolol of formula I, isomagnolol of formula II or honokiol of formula III as an active ingredient. The compound of formula I, II or III is obtained by extraction thereof from a tree bark of a plant belonging to the family Magnoliaceae with an alcohol. The resultant compound has low toxicity and is useful for preventing and treating human diseases, hyperlipemia or arteriosclerosis caused by accumulation of the cholesterol. Furthermore, the compound is preferably orally administered alone or together with a pharmacologically permissible salt, etc., and the



daily dose thereof is 10-500mg/kg.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

*** NOTICES ***

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1] The cholesterol absorption inhibitor which makes an active principle a magno roll, an iso magno roll, or Magnolia hypoleuca oar.

[Claim 2] The cholesterol absorption inhibitor according to claim 1 from which a magno roll, an iso magno roll, or Magnolia hypoleuca oar is extracted in alcohol from the bark of the department Magnolia vegetation of *****.

[Claim 3] Acyl coenzyme A which makes an active principle a magno roll, an iso magno roll, or Magnolia-hypoleuca oar: Cholesterol acyltransferase activity inhibitor.

[Claim 4] Acyl coenzyme A according to claim 3 from which a magno roll, an iso magno roll, or Magnolia-hypoleuca oar is extracted in alcohol from the bark of the department Magnolia vegetation of *****: Cholesterol acyltransferase activity inhibitor.

[Claim 5] Arteriosclerosis prevention / therapy agent which makes an active principle a magno roll, an iso magno roll, or Magnolia hypoleuca oar.

[Claim 6] Arteriosclerosis prevention / therapy agent according to claim 5 from which a magno roll, an iso magno roll, or Magnolia hypoleuca oar is extracted in alcohol from the bark of the department Magnolia vegetation of *****.

[Translation done.]

Art Unit: 1655

TITLE: Cholesterol absorption inhibitors, ACAT inhibitors,
and antiatherosclerotics containing Magnolia
allylphenols

INVENTORS: Sawada, Haruji; Chatani, Takako; Ooishi, Kenji;
Tezuka, Kenichi; Watanabe, Tsuneichi; Yokokura, Teruo

LANGUAGE: Japanese

FAMILY ACC. NUM. COUNT: 1

PATENT INFORMATION:

PATENT NO.	KIND	DATE	APPLICATION NO.	DATE
JP 08003033	A2	19960109	JP 1994-135422	19940617 <--
PRIORITY APPLN. INFO.:			JP 1994-135422	19940617

ABSTRACT

Cholesterol absorption inhibitors, ACAT inhibitors, and preventive and therapeutic agents containing magnolol (I), isomagnolol, or honokiol (II) as an active ingredient are claimed. These phenols may be extracted from Magnolia plants with alcs. IC50 values of I and II against ACAT were 27 and 35 <SYM109>m, respectively. I was formulated into tablets. Extraction of I and II from Magnolia officinalis bark is also given.

*** NOTICES ***

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Industrial Application] By checking cholesterol acyltransferase (henceforth "ACAT"), this invention prevents absorption of cholesterol, and are recording, and relates to the physic for preventing and treating arteriosclerosis.

[0002]

[Description of the Prior Art] ACAT is the fatty-acid-ester-ized enzyme of cholesterol and the inhibitor of this enzyme is expected as a remedy of arteriosclerosis (Drago R. et al., Tips 194, (12), 1991).

[0003] Also in our country, the arteriosclerosis nature disease which originates in hyperlipidemia and it with change of a living standard with the increment in the eating habits of a European and American mold and aging of population increases in recent years, and it has become a social problem. The intima of a blood vessel carries out hyperplasy of the arteriosclerosis, and it is a lesion with characteristic lipid are recording. The foam cell to which the cell of the macrophage origin has stored the cholesterol ester in the focus of atherosclerosis as a lipid droplet in recent years is observed, and it is presumed that it is deeply concerned with progress of a lesion. Moreover, the ACAT activity of the blood vessel wall of an arteriosclerosis lesion part is high, and it is reported that the cholesterol ester is being accumulated to the blood vessel wall.

[0004] Therefore, if the matter which has ACAT activity accommodation is used, since it is removed from a self-possessed part by high density lipoprotein (HDL) and liver is carried and metabolized, as for the isolation cholesterol which can check esterification of cholesterol and exists in a cell, are recording of the cholesterol ester in a lesion part is controlled, and a direct anti-arteriosclerosis operation can be acquired.

[0005] Moreover, after the cholesterol contained during a meal is esterified by ACAT in a small intestine mucosal cell, it is emitted to a blood flow as a component of chylomicron. Therefore, if the inhibitor of ACAT is used, since a blood cholesterol level can be reduced by checking absorption by the small intestine epithelial cell of the cholesterol under meal, arteriosclerosis can be controlled as the result.

[0006] Moreover, after being decomposed into isolation cholesterol by cholesterol esterase, the cholesterol ester carried by chylomicron to liver is again changed into a cholesterol ester by ACAT with the isolation cholesterol compounded by liver, is included in very low density lipoprotein (VLDL), and is emitted into blood. Therefore, if esterification of cholesterol is prevented with this ACAT inhibitor, while the amount of isolation cholesterol of liver will increase and control of a cholesterol composition system will start, the 7 α -hydroxylase activity which is the rate limiting enzyme in the process of conversion to the bile acid of cholesterol rises, and the catabolism excretory process to the bile acid of cholesterol increases.

[0007] Thus, if ACAT inhibitor is used, by checking the absorption from the small intestine of the cholesterol under meal, re-esterification of the cholesterol in liver can be controlled, a blood cholesterol level can be further reduced according to a catabolism elimination promotion operation of cholesterol

again, and arteriosclerosis can be prevented or treated.

[0008]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] Although some ACAT inhibitor which a natural microorganism produces is reported conventionally, the actual condition is that ACAT inhibitor still useful as physic is not obtained. Therefore, the purpose of this invention is to offer the cholesterol absorption inhibitor and arteriosclerosis prevention / therapy agent containing outstanding ACAT inhibitor.

[0009]

[Means for Solving the Problem] As a result of this invention person's inquiring wholeheartedly in view of this actual condition, a header and this invention were completed for this matter being a magno roll, an iso magno roll, and Magnolia hypoleuca oar about that there is matter which has the ACAT inhibitory action which was excellent in the extract of the department Magnolia vegetation of *****, as a result of isolating and refining that ACAT inhibitor further, a header and.

[0010] That is, this invention offers the cholesterol absorption inhibitor and arteriosclerosis prevention / therapy agent which contain a magno roll, an iso magno roll, or Magnolia hypoleuca oar as an active principle.

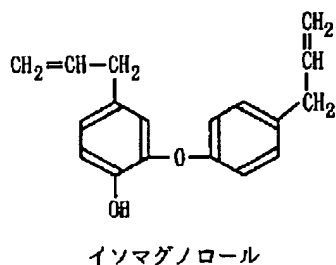
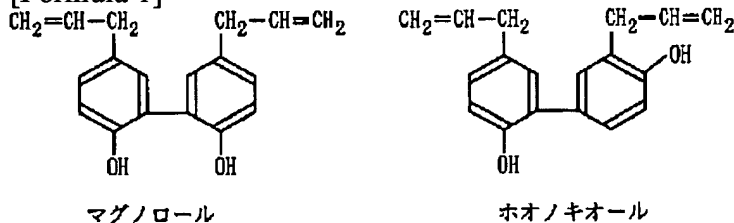
[0011] The magno roll, iso magno roll, or Magnolia hypoleuca oar used by this invention is a component contained in the bark of the vegetation of ** Magnolia which does not give those, such as Magnolia officinalis and a Wakouboku,, either, and the Wakouboku is indicated by the Japanese pharmacopoeia as a magnoliae cortex, and is used for it as a stomachic and painkilling ***** (digestive medicine).

[0012] However, there is no report that ACAT inhibitor is contained in the component in Magnolia officinalis or a Wakouboku.

[0013] The magno roll, Magnolia hypoleuca oar, and iso magno roll which are the active principle of this invention are expressed with the following structure expression.

[0014]

[Formula 1]



[0015] These active principles are obtained by extracting the bark of for example, the department Magnolia vegetation of ***** in alcohol.

[0016] here -- also using -- although all can be used as vegetation of ** Magnolia which is not given if the above-mentioned matter is contained, Magnolia officinalis (Magnolia OFISHI Alice: cinae flos Magnolia hypoleuca), the Hupei **** (Magnolia SUPURENGERI), and a Wakouboku (Magnolia OBOVATA) are mentioned, for example. Above all, Magnolia officinalis is the most desirable.

[0017] *Magnolia officinalis* is China Minabe native and is a fallen-leaves tree which is distributed over Kuanhsi, Hunan, Hupei, Sichuan, Kueichou, Yunnan, etc., and fits humid and cool climate. pressure of business of this bark and cortex is carried out as a direction agent of Chinese medicine for many years -- having -- **** -- the feeling of oppression of a breast abdomen -- and -- ** -- it is used for ***** of a breast abdomen, abdominal pain, etc. as ****, a disturbance, urination, ****, antiussive, ready intestines, and a digestive.

[0018] As for the alcohol used for the extract of the aforementioned active principle from the vegetation of *Magnolia*, lower alcohol, such as a methanol, ethanol, and propanol, is mentioned. Moreover, these alcohol may be used as mixture, i.e., water alcohol, with water.

[0019] Vacuum concentration of the obtained extract may be carried out, and it may be used as physic as it is, and a chromatography etc. may refine it. In order to refine using a chromatography, fractionation of an active ingredient can be performed by carrying out the laminating of the concentrate of a ***** extract to the upper part of the glass column (the bore of 5cm, die length of 30cm) which filled up silica gel with chloroform, and carrying out sequential elution with chloroform 600ml each, a 95% chloroform:methanol, a 90% chloroform:methanol, and a 80% chloroform:methanol.

[0020] the eluted liquid -- 150ml -- or 200ml can isolate preparatively at a time, reduced pressure hardening by drying of the activity fraction can be carried out, and a rough active substance can be acquired. Using high performance chromatography (Waters system 600E), opposition C18 column can be used and separation purification of this can be carried out by the solvent system of acetonitrile:water (50:50). Moreover, when required, preparative isolation thin-layer chromatography can refine an activity fraction.

[0021] next, the magno roll obtained by this invention and *Magnolia hypoleuca* oar are biological -- description and toxicity are described.

[0022] (1) the crude enzyme which prepared the effect to the inhibitory action acyl CoA (cholesterol acyltransferase) activity over rat origin acyl CoA (cholesterol acyltransferase) from the microsome protein fraction of rat liver -- using -- (14C)- me -- the reaction which makes a substrate generate (14C)- KORESUTERIRUORIETO for Oil CoA from endogenous cholesterol was made to perform by in vitro one It carried out to the detail as following. the reaction mixture presentation when making a culture supernatant into a sample -- 20microl Microsome protein (1.83mg/(ml)) and 20microl (14C)- me -- Oil CoA (microcurie [5 / /], BSA:96nmol/ml ml) and 90microl A 100mM phosphate buffer solution (pH7.4 containing the dithiothreitol of 5mM), and 20microl Culture supernatant liquid and total 150microl from -- it becomes. the reaction mixture presentation when on the other hand making a fractionation object into a sample -- 20microl Microsome protein (1.83mg/(ml)) and 20microl (14C)- me -- Oil CoA (microcurie [5 / /], BSA:96nmol/ml ml) and 106microl 100mM phosphate buffer solution (pH7.4 containing dithiothreitol of 5mM) 4microl Sample and total 150microl dissolved in a methanol or dimethyl sulfoxide from -- it becomes.

[0023] In addition, after it performed the reaction at 37 degrees C, it added KORESUTERIRUORIETO as 0.98ml of 0.04-N hydrochloric-acid water solutions, and a carrier after adding the 5.65ml chloroform:methanol (2:1) and suspending a reaction, after predetermined reaction-time (usually for 18 minutes) termination, and, and the shaker extracted for 20 minutes, it was left in the cool place overnight. The separated chloroform lower layer whole quantity was sampled on the next day, this was dried under the nitrogen air current, 5.65ml of Horthy's distribution solution lower layers was added to the upper layer which remained, and it extracted again. After leaving this in a dark place overnight, the lower layer whole quantity was sampled and it hardened by drying together with the chloroform lower layer fraction which hardened by drying previously.

[0024] Next, it is 200microl about this. It dissolves in chloroform and is silica gel thin-layer chromatography. Whole-quantity spreading was carried out at G60 plate (aluminium sheet). this -- diethylether: -- after developing 10cm with the petroleum ether (10:190), autoradiography was performed and generated KORESUTERIRUORIETO (14C) was checked. Next, each sample measured radioactivity for this part for 30 minutes in toluene as cutoff by liquid scintillation counting or the beta scope (made in beta Gen) for 5 minutes. the result of having measured the concentration which checks

this enzyme 50% -- IC50 value of a magno roll -- IC50 value of 27microM and Magnolia hypoleuca oar -- 35microM it was .

[0025] (2) Cholesterol ester are recording depressant action to the macrophage of a cholesterol ester are recording depressant action magno roll and Magnolia hypoleuca oar to a macrophage was performed using J771.4 share which is the macrophage establishment cell of a mouse.

[0026] Although the metabolic turnover of LDL in an endothelial cell or a smooth muscle cell requires down REGYURESHON of an LDL receptor by intracellular superfluous isolation cholesterol, in a macrophage, incorporation of Denaturation LDL is based on a scavenger receptor course. Since this path does not require a regulation, a cholesterol ester accumulates it without any restriction.

[0027] Then, acyl CoA which a macrophage cell is made to incorporate the liposome which consists of cholesterol which carried out the label by ^{14}C , and phosphatidylcholine, and exists in rough surfaced endoplasmic reticulum: It investigated whether this magno roll and Magnolia hypoleuca oar would control are recording of an intracellular cholesterol ester by making it act on cholesterol acyltransferase.

[0028] RPMI which added 10% fetal-calf-serum and penicillin 50U/ml, and streptomycin 50microg / ml for the macrophage cell At 1640 culture media (NISSUI PHARMACEUTICAL make), they are two days and 5%CO2. It incubated on conditions. Subsequently, trypsinization is performed, after removing the cell adhering to the base of a well and considering as cell suspension, a cell is washed by the above-mentioned fresh culture medium, and it is 2×10^6 cell [/ml] solution 750microper one well l to the multiple well plate (Corning, Inc. make 25820-24) of 24 holes. Seeding was carried out. 37 degrees C and 5%CO2 After cultivating under conditions for 37 hours, it exchanges for said fresh culture medium, and it is 80 moremicrog. Cholesterol (0.4microcurie (3H)-cholesterol is included) and 160microg Glucose solution 40microl of 0.3M containing phosphatidylcholine, and methanol solution 10microl which dissolved the specimen It added and cultivated for 12 hours. These actuation was performed in sterile.

[0029] RPMI which does not contain a blood serum after culture termination After the Komagome type pipette washed the cell which has adhered to the base using 1640 culture media 5 times, 1ml isopropanol was added and intracellular cholesterol and the generated intracellular cholesterol ester were extracted. Autoradiography was performed, after carrying out whole-quantity spreading of this extract at silica gel thin-layer chromatography (Merck Co. make Art.5553) and developing with a hexane:ether:formic acid (80:20:2). Next, the cholesterol ester and cholesterol part by which the label was carried out by 3H were cut off, radioactivity was measured with the liquid scintillation counter, and the rate of cholesterol ester are recording control was obtained as compared with contrast. the result -- IC50 value of a magno roll -- IC50 value of 21microM and Magnolia hypoleuca oar -- 23microM it was .

[0030] (3) Although an acute toxicity operation magno roll and Magnolia hypoleuca oar were administered orally to the rat every day for two weeks in 500mg/kg, respectively, toxicity etc. was not accepted at all.

[0031] Like the above, a magno roll, an iso magno roll, and Magnolia hypoleuca oar have the outstanding ACAT activity inhibitory action, and since safety is high, they are useful as a human cholesterol absorption inhibitor, and they are useful for prevention and the therapy of the illness which originates in cholesterol are recording further, i.e., hyperlipidemia, and arteriosclerosis.

[0032] As for the above-mentioned magno roll, an iso magno roll, or Magnolia hypoleuca oar, it is desirable to prescribe a medicine for the patient in taking orally with the support permitted independently or in pharmacology. As pharmaceutical preparation for internal use, a tablet, a capsule, a granule, powders, the trochiscus, syrups, etc. are mentioned. In solid constituents, such as a tablet, a capsule, a granule, powders, and trochiscus, flavor agents, such as sweetening agents, such as lubricant, such as disintegrator, such as binders, such as excipients, such as starch, a lactose, a carboxymethyl cellulose, and a precipitated calcium carbonate, gum arabic, tragacanth gum, gelatin, methyl cellulose, and a carboxymethyl cellulose, an alginic acid, and corn starch, magnesium stearate, a water silicon dioxide, and light anhydrous silicic acid, and saccharose, and menthol, etc. can be contained. In liquefied constituents, such as syrups, a sorbitol, gelatin, methyl cellulose, vegetable oil, a sweetening agent besides an emulsifier, a flavor agent, a coloring agent, etc. can be contained. It is desirable to

contain 1 - 95% of the weight of the above-mentioned active principle in these pharmaceutical preparation. Moreover, as for a dose, it is desirable to consider as 10-500mg/kg and a day as the above-mentioned active principle.

[0033]

[Effect of the Invention] Its toxicity is low, and since each of magno rolls which are the active principle of the cholesterol absorption inhibitor of this invention or arteriosclerosis prevention / therapy agent like the above, iso magno rolls, and Magnolia hypoleuca oar shows remarkable inhibition activity to the acyl CoA cholesterol acyltransferase, it is useful for prevention and the therapy of the illness resulting from human cholesterol are recording, hyperlipidemia, and arteriosclerosis.

[0034]

[Example] Next, although an example is given and this invention is further explained to a detail, this invention is not limited to these.

[0035] The maceration extract of Magnolia officinalis of 1500g of examples was carried out at the room temperature between one week using the methanol of 10L. After filtering a methanol extract after that, concentration hardening by drying was carried out and the 72g crude extract was obtained. Next, a 95% chloroform:methanol, a 90% chloroform:methanol, and 80% chloroform after carrying out the laminating of all the crude extracts to a silica-gel-column chromatography (5cm phix60cm) and being eluted under 600ml chloroform: 600ml of each methanol recovered the activity fraction by carrying out sequential elution. The obtained rough active substance was 39g. Next, the silica gel column chromatography (5cm phix100cm) which made the chloroform:methanol (95:5) the eluate for this rough active substance whole quantity performed chromatography fractionation again.

[0036] 150ml isolated preparatively at a time, and the eluate carried out reduced pressure hardening by drying of the activity fraction, and acquired the 29g rough activity fraction. Next, using high performance chromatography (Waters system 600E), opposition C18 column (Waters micro bonder pack C18) was used, separation elution of the 1.8g of the above-mentioned rough active substances was carried out with the solvent of acetonitrile:water (50:50), and two kinds of active ingredients (1:354mg of components, 2:276mg of components) were isolated.

[0037] Two kinds of components 1 and the component 2 which show such ACAT inhibition activity refined with the preparative isolation thin-layer chromatography (Merck [Co.] make: silica gel 60F254 Art.5717) which used the chloroform:methanol (80:20) as the expansion solvent further about each. The needle crystal of the 223mg component 1 and the 189mg component 2 was obtained by recrystallizing an active ingredient 1 in ethyl acetate, and making an active ingredient 2 recrystallize in benzene finally. Each purity was 95% or more in analysis by high performance chromatography.

[0038] next, the obtained active substance is physicochemical -- description is described.

active-ingredient 1 (1) molecular formula: -- C₁₈H₁₈O₂ (2) molecular-weight: -- 266 (m/z266 (M⁺) was observed with the mass spectrum.)

(3) Ultraviolet absorption spectrum (inside of ethanol) : the passage of drawing 1 .

(4) Infrared absorption spectrum (inside of KBr) : the passage of drawing 2 .

(5) Solubility over a solvent : insoluble [in soluble and water] to a methanol, ethanol, an acetonitrile, ethyl acetate, chloroform, and benzene.

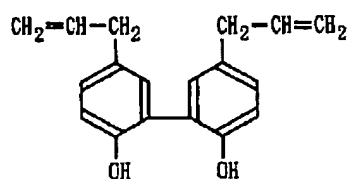
(6) Basicity, acidity, neutral distinction : neutrality.

(7) The color of the matter, a configuration : white, powder.

Proton nuclear-magnetic-resonance spectrum (inside of deuteration dimethyl sulfoxide) : (8) 1 H-NMR delta:3.27 (4H, d, J= 8Hz) (DMSO-d₆,400MHz, 37c), 5.01 (2H, d, J= 16Hz), 5.05 (2H, d, J= 28Hz), 5.88-5.98 (2H, m), 6.81 (2H, d, J= 8Hz), 6.93 (2H, s) and 6.94 (2H, d, J= 8Hz), 8.94(2H, broad s). (refer to drawing 3)

(9) Chemical structure : [0039]

[Formula 2]



マグノロール

[0040] As mentioned above, this active ingredient 1 was identified the magno roll.

[0041] active-ingredient 2 (1) molecular formula: -- C₁₈H₁₈O₂ (2) molecular-weight: -- 266 (m/z266 (M⁺) was observed with the mass spectrum.)

(3) Ultraviolet absorption spectrum (inside of ethanol) : the passage of drawing 4 .

(4) Infrared absorption spectrum (inside of KBr) : the passage of drawing 5 .

(5) Solubility over a solvent : insoluble [in soluble and water] to a methanol, ethanol, an acetonitrile, ethyl acetate, chloroform, and benzene.

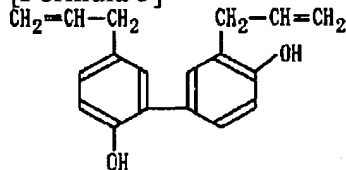
(6) Basicity, acidity, neutral distinction : neutrality.

(7) The color of the matter, a configuration : white, powder.

Proton nuclear-magnetic-resonance spectrum (inside of deuteration dimethyl sulfoxide) : (8) 1 H-NMR delta:3.27 (2H, d, J= 4Hz) (DMSO-d₆,400MHz, 37c), 3.32 (2H, d, J= 8Hz) 5.00 (2H, d, J= 12Hz), 5.05 (1H, d, J= 20Hz) 5.06 (1H, d, J= 20Hz), 5.88-5.98 (1H, m), 5.94-6.03 (1H, m), 6.81 (2H, d, J= 8Hz), 6.88 (1H, d, J= 8Hz), 6.95 (1H, d, J= 4Hz), 7.20 (1H, d, J= 12Hz), 7.21 (1H, s), 9.06 (1H, broad s), 9.16 (1H, broad s). (refer to drawing 6)

(9) Chemical structure : [0042]

[Formula 3]



ホオノキオール

[0043] As mentioned above, this active ingredient 2 was identified Magnolia hypoleuca oar.

[0044] Manufacture of the tablet containing an example 2 magno roll or Magnolia-hypoleuca oar: The following component was mixed and tableted with the mixer and 1000 0.5g tablets were obtained, respectively.

[0045]

[Table 1]

The example 1 (tablet) of pharmaceutical preparation

Magno roll 25g Lactose 200g Stearin acid talc 20g Starch 30g [0046]

[Table 2]

The example 2 (tablet) of pharmaceutical preparation

Magnolia hypoleuca oar 25g Lactose 200g Stearin acid talc 20g Starch 30g

[Translation done.]